Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität, Münster/Westf.

Über Reststickstoff- und Ammoniakgehalt des entzündeten Gewebes.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität, Münster/Westf.

Vorgelegt von

Cornelius Meyboom

(Arzt)

aus Bislich b. Wesel.

Buch- und Kunstdruckerei Wilh. Postberg, Bottrop i. W.

1936

Dekan: Prof. Dr. J ö t t e n.

Referent: Privatdozent Dr. med et phil. W. H a a r m a n n.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.).

Als eine der Grundwirkungen der unspezifischen Reiztherapie, die geeignet ist, große Teile der oft auftretenden Erscheinungen zu erklären, ist das Auftreten pharmakologisch wirksamer Stoffe, die in ähnlicher Weise auch aus dem Zellzerfall gebildet werden. Das Wirkungsbild verläuft bekanntlich in zwei Phasen und die dabei auftretenden Erscheinungen lassen sich in Einklang bringen mit der Entstehung der beiden Typen von Zellzerfallsstoffen, die Freund[1]) als Früh- und Spätgifte beschrieben hat. So würde das Frühstadium nach der Einwirkung unspezifischer Reize den Frühgiften, das Spätstadium den Spätgiften entsprechen. Diese Auffassung Freund's ist im allgemeinen heute von der Mehrzahl der Autoren[2]) angenommen worden. Die Ansicht Freund's kann wohl als sicher gestellt gelten, nachdem es Zipf[3]) gelungen ist, als Träger der Kreislaufwirkung des Frühgiftes die Adenylsäure zu isolieren und zu definieren. Damit ist es gelungen, einen der von Freund als „Zellzerfallshormone" bezeichneten pharmakologisch wirksamen Intermediärstoffe chemisch sicherzustellen.

Inzwischen haben einige Erfahrungen gezeigt, daß die Adenylsäure nur Träger der blutdrucksenkenden Frühgiftwirkung ist, daß jedoch die zentralnervösen Wirkungen, die zum tödlichen Schock führen, offenbar andere Ursachen haben müssen. Vor allem geht die aus Untersuchungen König's[4]), der mit frischem Muskelpreßsaft arbeitete, und aus Untersuchungen Dölle's[5]) hervor, der den Schock durch defibriniertes Blut durch gerinnungshemmende Mittel verhindern konnte, obwohl die Blutdrucksenkung durch diese Vorbehandlung nicht beeinflußt wird. Gerade dieser letztere Befund läßt wieder erkennen, wie enge Verbindungen zwischen Schock, Proteinkörpertherapie und kolloiden Zustandsänderungen des Blutes bestehen; bekanntlich hat Sachs[6]) das Wesen der Proteinkörper-

[1]) Freund, H.: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 119, 16, 1926.

[2]) Vgl. Nonnenbruch:Münch. med. Wo. 1928, S. 160; Matthes: Klin. Wo. 1922, Nr. 44 und Zentralbl. f. d. ges. Ophthalmolog. u. Grenzgebiete Bd. 16, S. 689, 1926.

[3]) Zipf, K.: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 160, 6, 1931.

[4]) König, W.: Der Chirurg, 1934, 6. Jg., S. 41.

[5]) Dölle, H.: Inaugural-Dissertation, Münster 1934.

[6]) Lit. bei Dölle.

therapie in einer erhöhten Labilität der Kolloide gesucht. Immerhin liegen aber eine Reihe von Befunden vor, die dafür sprechen, daß Abbauprodukte vor allem wohl des Eiweißes es sind, deren Auftreten zum Wesen der unspezifischen Reizwirkung gehört. Reststickstoffvermehrung im Blute und in den Organen ist von einer Reihe Autoren gefunden worden[7]). Es ist also damit zu rechnen, daß nicht nur die Adenylsäure, sondern andere Intermediärprodukte an der unspezifischen Reizwirkung beteiligt sind.

Die Reststickstoffvermehrung steht in gutem Einklang mit den Feststellungen einer Reihe von Autoren, die nach unspezifischen Reizen verschiedener Art gerade die Fermente des Eiweißabbaues vermehrt fanden. Matthes[8]) führt den gesteigerten Eiweißabbau auf den Fortfall antitryptischer Wirkungen zurück. Aber es kann wohl kaum bezweifelt werden, daß sowohl eigentliche Proteasen als auch die erepsinähnlichen Peptidasen vermehrt sind. Dies geht vor allen Dingen aus den Arbeiten von Jobling und Petersen[9]) hervor. Ihr Auftreten unter der örtlichen Entzündungserregung würde die Reststickstoffvermehrung erklären können.

Die Adenylsäure hat bekanntlich ihre physiologische Bedeutung für die Muskeltätigkeit und ist wohl in erster Linie die Ursache der Arbeitshyperämie. Die Frage, ob aber im Zellzerfall und bei der unspezifischen Reizwirkung nicht immer neben der Adenylsäure noch andere stickstoffhaltige Abbauprodukte entstehen, bleibt zunächst offen. Dies gilt vor allem auch für örtliche Einwirkungen, die mehr oder weniger stark ausgeprägte Entzündung hervorrufen. Aus den Arbeiten Zipf's[10]) und Wenzel's[11]) geht hervor, daß bei einer am Kaninchenohr hervorgerufenen Entzündung der Adenylsäuregehalt regelmäßig und beträchtlich vermehrt wird. Für eine besondere Art von Entzündung, nämlich der durch Einwirkung von schwefelhaltigem Wasser und Schwefelschlamm, hat Jakoby[12]) zunächst diesen Befund bestätigt, darüber hinaus aber noch gefunden, daß dabei unter bestimmten Voraussetzungen neben der Adenylsäurevermehrung auch eine beträchtliche Steigerung des Ammoniaks auftritt.

---

[7]) Vgl. d. zusammenfassenden Zusammenstellungen von Matthes und Nonnenbruch: a. a. O.

[8]) Matthes: l. c.

[9]) Zusammenfassende Darstellung bei Petersen: Proteintherapie und unspezifische Leistungssteigerungen, übersetzt von Weichardt, Berlin 1923, Springer, S. 29 und folgende.

[10]) Zipf: Internistenkongreß 1933, Wiesbaden.

[11]) Wenzel: Inaugural-Dissertation, Münster 1932.

[12]) Jakoby: ebenda 1934.

Es ist die Aufgabe der vorliegenden Arbeit, diese Befunde Jakoby's nachzuprüfen und außerdem zu untersuchen, ob auch bei anders ausgelösten örtlichen Entzündungen gesetzmäßige Änderungen im Ammoniak- und Reststickstoffgehalt auftreten.

Methodik.

Die Versuchsanordnung, welche immer die gleiche blieb, war folgende: Als Versuchstiere wurden Kaninchen verwendet. Es wurde jeweils ein Ohr der Tiere mit einem der später angegebenen Mittel zur Entzündung gebracht. Daraufhin wurden sie getötet und beide Ohren an der Wurzel abgeschnitten. Anschließend wurde je ein halbes Ohr mit einer Schere in ein mit 10 bzw. 20 ccm Trichloressigsäure aufgefülltes Wägegläschen in möglichst kleine Teilchen zerschnitten, die andere Hälfte in ein Trockengläschen. Dies wurde jeweils einem Trockenschranke entnommen. Beide waren mit einem eingeschliffenen Deckel versehen und wurden mit und ohne Ohrsubstanz auf einer Mikrowage gewogen und aus dem Gewichtsunterschied das absolute Ohrgewicht errechnet. Das Trockengläschen wurde dann solange auf 95—100° erwärmt, bis das mehrmals kontrollierte Gewicht unverändert blieb. Aus dem Feucht- und Trockengewicht konnte so die Prozentzahl des Trockengewichtes gegenüber dem Feuchtgewicht errechnet werden.

Das Wägegläschen mit der anderen Ohrhälfte wurde auf 100 ccm mit der 10%igen Trichloressigsäure aufgefüllt. Nach vollkommen dichtem Verschluß verblieb es 1½ Stunden in einem Schüttelkasten, um so die Ohrsubstanz in einen möglichst innigen Kontakt mit der Trichloressigsäure zu bringen. Dann wurde der Inhalt filtriert und aus dem Filtrat der Ammoniak bzw. der Reststickstoff bestimmt.

Zunächst wurden 20 ccm des Filtrats in einem Kolben mit einigen Tropfen Phenophthalein gefüllt. Mittels einer vollkommen luftdicht abgeschlossenen Überdampfungsapparatur wurde nach Alkalisierung des Filtrates mit einer 33%igen Kalilauge unter Zuhilfenahme einer Wasserstrahlpumpe das Ammoniak in eine 10 oder 20 ccm Vorlage einer n/200 H_2SO_4 + KJO_3 + KJ überdampft. Bei den Ammoniakbestimmungen dauerte dieser Vorgang 20 Minuten. Um ganz exakte Werte zu erhalten, wurde die Apparatur vor jedem Versuche 1½ Std. ausgedämpft. Das in die Vorlage eintauchende Röhrchen wurde gut mit Aqu. dest. abgespült und das Ganze mit einer n/200 Lösung $Na_2S_2O_3$ titriert. Da 1 ccm n/200 H_2SO_4 0,07 mg N_2 entspricht, kann ich mittels dieser Zahl mal der verbrauchten n/200 H_2SO_4 + KJO_3 + KJ · 5 (da ich nur 20 ccm des Filtrates

benutzt habe) den NH_3-Gehalt in mg berechnen. Aus dem gefundenen Wert mal 100, dividiert durch Ohrmenge in mg erhalte ich die Prozentzahl des Ammoniakgehaltes bezogen auf das Ohrfeuchtgewicht. Die Prozentzahl des Ohrtrockengewichtes ist bekannt und so die Umrechnung auf die Trockensubstanz möglich.

Bei der Reststickstoffbestimmung wurden 20 bzw. 10 ccm des Filtrates nach Kjeldahl verascht und das Ganze wie bei der Ammoniakbestimmung übergedampft. Die hinreichende Alkalisierung zeigte sich hier durch die Schwarzfärbung der Asche infolge der Bildung von CuO. Auch wurde nur 10 Minuten bei eingetauchtem Rohr und 5 Minuten nach Tieferstellen der Vorlage übergedampft. Das Titrieren und Ausrechnen des Reststickstoffgehaltes erfolgte ebenso wie es bei der Ammoniakbestimmung erläutert wurde.

In 10 Versuchen wurde außerdem noch der Gesamtstickstoff bestimmt, dessen hohen Werte in bezug auf die geringen des Reststickstoff- und Ammoniakgehaltes in dieser Arbeit nicht berücksichtigt wurden.

Versuchsergebnisse.

Als entzündungserregende Einwirkung wurde zunächst ein Wasserbad von 55° ca. 1½ Std. angewandt. Das Tier erhielt dabei 5 ccm einer 20%igen Urethanlösung pro kg als Narkose. Die noch nassen Ohren wurden leicht abgetrocknet und in der oben beschriebenen Weise untersucht. In der Tabelle 1 sind die vorliegenden 4 Versuche zusammengestellt.

Tabelle 1.

Versuch		Ammoniak in mg %	Reststickstoff in mg %
1	normal	79,82	406,70
	entzündet	111,90	644,30
2	normal	44,23	797,20
	entzündet	50,87	640,40
3	normal	41,81	1107,20
	entzündet	67,93	802,80
4	normal	10,88	529,20
	entzündet	69,58	278,00

In allen Versuchen war der Ammoniakgehalt auf der Seite des entzündeten Ohres vermehrt, und zwar in verschiedenen Graden. Die höchste Vermehrung betrug das 6fache der normalen Seite. Der Reststickstoff war nur in einem Versuche vermehrt, in den drei anderen dagegen vermindert.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde die Entzündungserregung durch Kantharidentinktur in der Weise durchgeführt, daß eine hinreichende Entzündung entstand. Die drei Versuche sind in der Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2.

Versuch		Ammoniak in mg %	Reststickstoff in mg %
1	normal	6,90	219,50
	entzündet	10,39	239,20
2	normal	15,26	591,30
	entzündet	6,42	445,50
3	normal	40,29	816,10
	entzündet	31,42	809,5

Nur im ersten Versuch zeigt sich eine Vermehrung sowohl des Reststickstoffs wie des Ammoniaks. In den beiden anderen Versuchen sind diese Werte dagegen vermindert.

Die dritte Versuchsreihe wurde mit Xylol durchgeführt. Das eine Ohr wurde wiederholt mit Xylol eingerieben, bis nach einiger Zeit eine starke Entzündung eintrat.

Tabelle 3.

Versuch		Ammoniak in mg %	Reststickstoff in mg %
1	normal	97,53	396,80
	entzündet	67,37	320,40
2	normal	43,21	377,70
	entzündet	25,40	357,10
3	normal	49,09	443,30
	entzündet	18,94	339,20
4	normal	33,02	778,30
	entzündet	14,78	543,60
5	normal	13,38	498,40
	entzündet	16,51	369,40

In allen Xylolversuchen ist der Reststickstoff mehr oder weniger auf der entzündeten Seite vermindert und ebenso auch der Ammoniak in den Versuchen 1—4. Nur im letzten Versuch ist eine geringe Steigerung des Ammoniaks festzustellen.

Bei der nächsten Versuchsreihe wurde im Anschluß an die Beobachtungen Jakoby's die Einwirkung von einer schwefelhaltigen Salbe untersucht. Ein Ohr wurde an mehreren Tagen mit Diasporalsalbe kräftig einmassiert, bis eine Entzündung zu sehen war.

Tabelle 4.

Versuch		Ammoniak in mg %	Reststickstoff in mg %
1	normal	16,97	287,80
	entzündet	16,00	239,30
2	normal	21,12	329,30
	entzündet	16,36	230,50
3	normal	7,24	416,80
	entzündet	23,26	225,40
4	normal	9,58	530,50
	entzündet	7,72	387,50
5	normal	28,21	546,70
	entzündet	8,02	449,10

Auch hier war in allen 5 Versuchen eine Verminderung des Reststickstoffes festzustellen. Nur im dritten Versuch ist der Ammoniakgehalt gesteigert. In den anderen Versuchen herabgesezt, und zwar in den Versuchen 2 und 5 beträchtlich.

Zur Beurteilung dieser Ergebnisse gehört noch die Feststellung, daß der Gesamtstickstoff bezogen auf die Trockensubstanz auf der entzündeten und auf der normalen Seite in den 10 untersuchten Fällen ganz unverändert blieb. Aus den Werten für Reststickstoff und Ammoniak geht auch hervor, daß sie zahlenmäßig im Gesamtstickstoff kaum einen großen Ausschlag geben können. Die Abnahme der Werte, die in der Mehrzahl der Versuche gefunden wurde, dürfte eine Folge des vermehrten Abtransportes durch die Hyperämie sein. Daß in den Versuchen mit heißem Wasser sich auch eine Ammoniakvermehrung fand, kann vielleicht dadurch erklärt werden, daß einmal die Abbauvorgänge in der Wärme schneller verlaufen, und daß ferner die Temperatureinwirkung bei längerer Dauer eher zu einer Stase geführt haben kann. Zu berücksichtigen wäre evtl. auch der N-Gehalt des Narkosemittels Urethan.

Gesetzmäßigkeiten über die Einwirkungen der Entzündung aus Reststickstoff und Ammoniak lassen sich also aus den Versuchsergebnissen nicht ableiten. Es bleibt also noch aufzuklären, wie die Ammoniakvermehrung bei Schwefeleinwirkung in dem Versuche von Jakoby zustande gekommen ist. Aus äußeren Gründen mußten die Untersuchungen, die in Bad Eilsen angesetzt und später in Münster zu Ende geführt wurden, sich auf längere Zeit erstrecken. Es lag zwischen der Tötung des Tieres und der Untersuchung des sofort nach der Tötung in Trichloressigsäure aufgehobenen Materials eine wechselnde Reihe von Tagen. In dieser Zeit war das Material, wie Jakoby ausgeführt hat, für die von ihm durchgeführte Adenylsäurebestimmung unbrauchbar geworden.

Die hochgradige Ammoniakvermehrung, die im entzündeten Ohr und nicht im normalen Ohr auftrat, war ein Nebenbefund. In frisch angesetzten Versuchen in Münster hatte er nur die Adenylsäurevermehrung nach Schwefelbehandlung feststellen können. Diese Versuche sind nunmehr durch die viermalige Versuchsreihe ergänzt worden, aus der hervorgeht, daß sofort nach der Tötung untersucht, die entzündeten Gewebe eine Ammoniakvermehrung vermissen lassen.

Um diese abweichenden Ergebnisse zu erklären, wurde in einem weiteren Versuche wie folgt vorgegangen: Nach einer hinreichenden Reizung mit Diasporalsalbe wurde das Ohr wie bisher in Trichloressigsäure gelegt. Jedoch 5 Tage und dann erst die Verarbeitung vorgenommen. Während dieser Zeit wurde das Versuchsmaterial nicht im Eisschrank, sondern bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die Zahlen dieses Versuches sind die folgenden:

Tabelle 5.

Versuch		Ammoniak in mg %	Reststickstoff in mg %
1	normal	25,23	927,70
	entzündet	67,56	993,40

Damit konnte ich das Resultat von Jakoby bestätigen. Es müssen also im entzündeten Ohre trotz der Behandlung mit Trichloressigsäure Reaktionen abgelaufen sein, die zu einer vermehrten Abspaltung von Ammoniak geführt haben. Dies spricht für die Richtigkeit der Auffassung von Jobling und Petersen, die Änderungen des Fermentgehaltes in den Vordergrund stellen.

Zusammenfassung.

Im ganzen haben die Versuche ergeben, daß in der großen Mehrzahl der Fälle die Produkte des Eiweißabbaues in erhöhtem Maße unter der Einwirkung der Entzündung abtransportiert und somit in den Kreislauf kommen. Dies gibt eine Erklärung für die allgemeine Wirkung örtlicher Entzündungen.

Lebenslauf.

Als Sohn des Guts- und Ziegeleibesitzers Cornelius Meyboom und seiner Ehefrau Johanna, geb. Pooth wurde ich am 2. 4. 07 zu Bislich, Kreis Rees, geboren.

Die Reifeprüfung bestand ich 1927 in Neuß. 1928 lag ich dem geodaetischen Studium ob. Zunächst praktisch. Im Wintersemester 27/28 war ich an der Bonn-Poppelsdorfer Hochschule immatrikuliert. Dann studierte ich an den Universitäten Bonn, Innsbruck, Münster Medizin. An letzterer bestand ich 1930 die ärztliche Vorprüfung. Die klinischen Semester verbrachte ich in Bonn, Kiel, Innsbruck, Düsseldorf und Münster. Daselbst bestand ich 1933 das medizinische Staatsexamen. Am 31. 12. 33 begann ich das praktische Jahr am Pharmakologischen Institut in Münster und blieb daselbst bis zum 15. 4. 34. Seitdem bin ich zunächst als Praktikant, dann als Volontär-Assistent auf der inneren Abteilung des St. Barbara-Hospitals, Hamborn.

Duisburg-Hamborn, den 16. 7. 1936.

Cornelius Meyboom.